

**Über die Relation der A- und B-Zellen im  
Inselorgan des Pankreas der Ratte unter  
blutzuckersenkenden Biguanidsubstanzen  
und bei Thioazetamidschädigung der Leber**

Dieter Brdiczka

1962







**Über die Relation der A- und B-Zellen im  
Inselorgan des Pankreas der Ratte unter  
blutzuckersenkenden Biguanidsubstanzen  
und bei Thioazetamidschädigung der Leber**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und  
einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

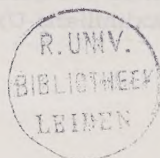
**Dieter Brdiczka**  
aus Berlin

München 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. A. GEORGII  
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. BÜNGELER  
Dekan: Prof. Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 26.6.1962



## INHALTSVERZEICHNIS

|                                               | Seite |
|-----------------------------------------------|-------|
| 1. Einleitung                                 | 5     |
| 2. Untersuchungsgut und Histologische Methode | 7     |
| 3. Versucherergebnisse, Teil I                | 10    |
| 4. Diskussion, Teil I                         | 19    |
| 5. Versuchsergebnisse, Teil II                | 25    |
| 6. Diskussion, Teil II                        | 29    |
| 7. Zusammenfassung                            | 32    |
| 8. Literaturangaben                           | 34    |



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

satz komme.

Aus dem bisher angeführten Schrifttum ergibt sich, dass bezüglich des Angriffpunktes der Guanidinderivate verschiedene Auffassungen bestehen. Zur Klärung solcher Fragen müsste die morphologische Untersuchung des Inselorgans des Pankreas unter der Einwirkung der heute in der Diabetestherapie verwendeten Biguanide herangezogen werden. Insbesondere für die Substanz Butylbiguanid fehlen solche morphologischen Untersuchungen. Es wurden deshalb im Zusammenhang mit Versuchen zur Organtoxizität der beiden Biguanidverbindungen (GEORGII 23; BOSS 4; SANGHA 59; VOGT 68) in der vorliegenden Arbeit die Bauchspeicheldrüsen der Versuchstiere untersucht. Neben der histologischen Beurteilung des Zellbildes wurde vor allem die A-B-Zellenrelation bestimmt, um auf Grund dieser Ergebnisse und im Vergleich mit Veränderungen bei bekannten endokrinen Störungen Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der Biguanide zu ziehen.

### Untersuchungsgut

Es wurden ausgewachsene weisse Ratten verwendet, die am Versuchsende bis zu 300 Tage alt waren. Sie wurden kohlenhydratreich ernährt und bekamen Wasser.

Als Kontrolle diente eine Gruppe von 10 unbehandelten Albinoratten, die etwa gleiches Alter und Gewicht wie die Versuchstiere hatten (Tabelle 1).

Im Teil I der Arbeit (Übersicht siehe Tabelle 2) werden Versuchsgruppen zusammengefasst, in denen die Tiere einmal über längere Zeit mit den beiden Biguanidsubstanzen Phenyläthyl- und Butylbiguanid belastet wurden. Zum Zweiten wurden im Kurzversuch unterschiedliche Dosierungen von Butylbiguanid gegeben, um Wirkungen dieser Substanz in Abhängigkeit von der Dosishöhe zu untersuchen. Drittens wurde neben den Biguaniden eine leberzelltoxische Substanz verabreicht, um Veränderungen am Inselorgan unter sicheren Parenchymschäden der Leber beurteilen zu können. Wir verwendeten hierfür Thioazetamid, dessen Wirkung auf die Leberzelle aus lang- und kurzfristigen Belastungsversuchen genau bekannt ist (RÜTTNER u. RONDEZ 57; RÜTTNER, RONDEZ u. GRASSMANN 58; GEORGII u. MEHNERT 24; GEORGII, MEHNERT, PROSIEGEL, KASTEIN und STOCK 25; AMBROSE, DE EDS u. RATHER 1).

In Teil II (Übersicht siehe Tabelle 10) der Arbeit werden Versuchsgruppen zusammengefasst, in denen wir Belastungen mit Sulfonylharnstoffen durchführten, die mit der bekannten Art ihrer B-Zellveränderungen als Kontrolle für das Färbefahren dienten. In zwei Gruppen wurde zusätzlich lang- und kurzfristig Butylbiguanid gegeben. Die Beurteilung der Inselveränderungen in den einzelnen Versuchsgruppen erfolgte durch die Bestimmung des Verhältnisses von A-Zellen zu B-Zellen, weil aus dieser unter normalen Verhältnissen konstanten Relation (FERNER 15; POKRAJAC u. Mitarb. 53) Rückschlüsse auf die Funktion des Inselorgans gezogen werden können.

Die Ergebnisse der histologischen Beurteilung, die an anderer Stelle ausführlich veröffentlicht werden, wurden zur Bestätigung der Zählungsergebnisse herangezogen.

Bouinfixierte Pankreasstückchen von 3 : 6 mm Kantenlänge wurden nach Paraffineinbettung in 5  $\mu$  dicke Schnitte aufgearbeitet. Aus drei solchen Präparaten vom selben Versuchstier zählten wir mindestens 1000 Inselzellen und bestimmten daraus die A-B-Zellenrelation. Zusätzlich wurden die wichtigsten morphologischen Veränderungen für die Beurteilung der Inselaktivität herangezogen.

Für das Differenzieren und Auszählen der A- und B-Zellen muss die histologische Färbung 2 Bedingungen erfüllen. Erstens ist eine gute Darstellung der Zellkerne und zweitens die Anfärbung der spezifischen Plasmagranula notwendig. Die Prägnanz der färberischen Darstellung der spezifischen Plasmagranula in beiden Zellarten des Inselorgans wechselt, trotz Verwendung des gleichen Färbeverfahrens, bei den einzelnen Tierarten. Es wurden deshalb mehrere der bekannten Granulafärbungen auf die gewünschten Eigenschaften hin geprüft. Die Aldehydfuchsinfärbung nach GOMORI 29 stellt die Plasmagranula und Zellkerne der B-Zellen dar. Es gelang aber nicht am Rattenpankreas, durch die angegebene Gegenfärbung (mit Orange G., Säurefuchsin oder Lichtgrün) die A-Zellen befriedigend hervorzuheben. Andererseits erreichten wir mit der Chromhaematoxylin-Phloxin-Färbung nach GOMORI 30 eine gute Kerndarstellung und ausreichende Differenzierung der A- und B-Zellen. Die A-Zellgranula färbten sich leuchtend rot an, dagegen ging die B-Zellgranulierung in einer diffusen Blaufärbung des Zellplasmas unter.

Eine von MASKE 44 angegebene Kombination dieser beiden Methoden, die Aldehydfuchsin-Phloxinfärbung, erwies sich als das beste Verfahren für unsere Untersuchungen, weil in beiden Zellarten die Plasmagranula gut angefärbt und auch die Zellkerne scharf dargestellt werden. Die 5  $\mu$  dicken Schnitte von den durchschnittlich 12 Std. bouinfixierten Pankreasstückchen wurden entparafiniert, mit Wasser gespült, bis die Gelbfärbung verschwand und mit einer Mischung aus einem Teil 5 %iger Schwefelsäure, einem Teil 2,5 %iger Kaliumpermanganatlösung und 6 Teilen Aqua dest. 30 Sekunden oxydiert. Nach kurzem Spülen in Leitungswasser wurden die Präparate bis zum Verschwinden der Braunfärbung etwa 10 Sekunden in 20 %iger Natriumbisulfitleösung gebleicht. Nach abermaligem Wässern in Leitungswasser erfolgte die B-Zellfärbung durch 10-minütiges Einstellen der Schnitte in stabile Paraldehydfuchsinlösung nach Vorschrift von HARMS 34. Die überschüssige Farbe wurde am Ende dieses Vorganges in 70 %igem Alkohol abgelöst und dann 10 Sekunden in Salzsäure-Alkohol (0,5 % HCL in 50 %igem Äthanol) differenziert.

Zur Kerndarstellung wurde 1 Minute mit Eisentrioxyhämatein nach HANSEN 33 gefärbt. Danach wieder eine Minute Spülen in Leitungswasser und Färbung der A-Zellen durch Einstellen in 0,5 %ige Phloxinlösung für 5 Min. (diese Lösung wurde jedesmal frisch hergestellt). Dann wurde überschüssiges Phloxin durch Leitungswasser abgespült und in 5 %iger Phosphorwolframsäurelösung für 2 Min. gebeizt. Danach 5 Min. Spülen in Leitungswasser und anschließende Differenzierung

in 80 bis 90 %igem Alkohol. Die Zeit für die Differenzierung ist unterschiedlich je nach Schichtdicke; bis die A-Zellen tiefrot erscheinen, sind 10-20 sec. notwendig.

Nach üblicher Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe und Xylol wurde in Canadabalsam eingebettet.

Bei diesem Färbeverfahren, das die B-Zellgranula blauviolett und die A-Zellgranula tiefrot hervorhebt, ist die morphologische Beurteilung und Auszählung der Zellen an den gleichen Schnitten möglich.

## VERSUCHSERGEBNISSE

In den folgenden Tabellen der Ergebnisse sind unter der Rubrik "Histologische Veränderungen" kurze Diagnosen zur Charakterisierung der Zellveränderungen angegeben. Nachstehend sollen die jeweils auf A- oder B-Zellen bezogenen Diagnosen erklärt werden. Dabei ist zu beachten, dass sich die Diagnosen auf das bei den untersuchten Tieren vorherrschende Bild der Zellveränderungen beziehen. Es liegen daher neben im Vordergrund stehenden Zelldegranulierungen auch normal granulierte Zellen des gleichen Typs vor.

Es bedeutet:

Degranulierung schwach: gerade erkennbare Granulaabnahme der Zellen.

Degranulierung mittel: deutlich sichtbare Granulaabnahme der Zellen. Die Granuladichte einer Zelle beträgt etwa noch die Hälfte der Norm.

Degranulierung stark: fast völlige Entgranulierung des Cytoplasmas der Zelle.

Vakuolisierung: optisch leeres Cytoplasma und vollständige Entgranulierung der Zelle.

TABELLE 1

A-B-Zellenrelation normaler weisser Ratten mit gleichem Alter (300 Tage) und Körpergewicht (200 g) wie die Versuchstiere.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A |
|--------------|----------|----------|-------|
| R 1          | 373      | 680      | 1,83  |
| R 2          | 464      | 983      | 2,12  |
| R 3          | 382      | 733      | 1,92  |
| R 4          | 460      | 822      | 1,79  |
| R 6          | 513      | 988      | 1,95  |
| R 7          | 435      | 816      | 1,88  |
| R 9          | 550      | 1140     | 2,08  |
| R 10         | 511      | 953      | 1,86  |
| R 11         | 320      | 641      | 2,00  |
| a R 12       | 490      | 878      | 1,79  |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $1,92 \pm 0,2$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Zellzahl der Inseln pro Schnittpräparat zwischen 20 und 200 Zellen schwankend. Bindegewebige Abgrenzung der Inseln vom exkretorischen Parenchym. A-Zellengruppierung mantelförmig um die zentral liegenden B-Zellen in 2 Zelllagen. A-Zellen halb so gross wie B-Zellen. Zellkerngrösse beider Zelltypen gleich. Inseln von zahlreichen Kapillaren durchsetzt, an denen die Zellen in gewundenen Bälkchen angeordnet sind. Cytoplasma bei Kombinationsfärbung nach MASKE (44): A-Zellen tiefrot, B-Zellen blauviolett granuliert.

TABELLE 2

Zusammenfassung der Versuchsgruppen von Teil I der Arbeit mit Angabe der zugeführten Substanz, ihrer Dosis und der Versuchsdauer.

| Substanz                                                   | Gesamtdosis<br>in mg/kg | Körpergewicht<br>in Gramm | Versuchstage | Ergebnisse<br>in Tab. |
|------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------|-----------------------|
| 1 Butylbiguanid                                            | 3300                    | 200                       | 140          | 3                     |
| 2 "                                                        | 250                     | 100                       | 5            | 4                     |
| 3 "                                                        | 1200                    | 100                       | 5            | 5                     |
| 4 Phenyläthylbiguanid                                      | 1981,1                  | 212                       | 131          | 6                     |
| 5 Thioazetamid                                             | 5375,6                  | 212                       | 131          | 7                     |
| 6 Thioazetamid gemein-<br>sam mit Phenyläthylbi-<br>guanid | 5375,6<br>1981,1        | 212                       | 131          | 8                     |
| 7 Thioazetamid gemein-<br>sam mit Butylbiguanid            | 4760<br>3300            | 200                       | 140          | 9                     |

TABELLE 3

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter langfristiger, 140-tägiger Belastung mit Butylbiguanid in einer Gesamtdosierung von 3300 mg/kg

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen | B-Zellen |
|--------------|----------|----------|-------|----------|----------|
| W 191        | 432      | 973      | 2,25  | normal   | normal   |
| W 189        | 419      | 936      | 2,24  | "        | "        |
| W 183 m      | 338      | 869      | 2,55  | "        | "        |
| W 183 c      | 278      | 765      | 2,76  | "        | "        |
| W 186 m      | 337      | 918      | 2,75  | "        | "        |
| W 186 c      | 200      | 522      | 2,61  | "        | "        |
| W 193        | 309      | 847      | 2,74  | "        | "        |
| W 215        | 229      | 520      | 2,27  | "        | "        |
| W 251        | 364      | 897      | 2,46  | "        | "        |
| W 254        | 297      | 811      | 2,74  | "        | "        |
| W 259        | 345      | 913      | 2,64  | "        | "        |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $2,56 \pm 0,32$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

An A- und B-Zellen keine Veränderungen. Grösse und Kapillarisation der Insel entspricht der Norm. Bei fast allen Tieren Wucherungen der Endstücke des exkretorischen Parenchyms. In diesen Proliferaten zahlreiche Mitosen und unterschiedliche Kerngrössen. In der Umgebung zartfaseriges dichtes Kollagenetz.

Sehr häufig kleinste solide Inseln, überwiegend aus B-Zellen bestehend, inmitten des exkretorischen Parenchyms.

TABELLE 4

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter kurzfristiger, 5-tägiger Belastung mit Butylbiguanid in einer Gesamtdosis von 250 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|----------|
| W 1          | 593      | 1093     | 1,85  | Degranulierung              | normal   |
| W 2          | 443      | 904      | 2,02  | "                           | "        |
| W 3          | 353      | 767      | 2,17  | "                           | "        |
| W 4          | 427      | 788      | 1,84  | "                           | "        |
| W 5          | 535      | 1082     | 2,02  | normal                      | "        |
| W 7          | 415      | 946      | 2,10  | "                           | "        |
| W 8          | 500      | 856      | 1,71  | "                           | "        |
| W 9          | 449      | 834      | 1,86  | "                           | "        |
| W 10         | 441      | 781      | 1,77  | "                           | "        |
| W 11         | 647      | 1232     | 1,91  | "                           | "        |
| W 12         | 366      | 714      | 1,95  | Degranulierung              | schwach  |
| W 13         | 398      | 845      | 2,12  | "                           | "        |
| W 14         | 508      | 996      | 1,96  | "                           | "        |
| W 15         | 508      | 849      | 1,67  | "                           | "        |
| W 16         | 544      | 965      | 1,77  | "                           | "        |
| W 17         | 425      | 747      | 1,76  | "                           | "        |
| W 18         | 694      | 1176     | 1,69  | "                           | "        |
| W 19         | 504      | 947      | 1,88  | normal                      | "        |
| W 53         | 553      | 1003     | 1,82  | "                           | "        |
| W 88         | 406      | 706      | 1,74  | "                           | "        |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $1,88 \pm 0,29$

#### Zusammenfassender histologischer Befund:

9 der 21 Tiere dieser Gruppe zeigen keine Veränderungen der A- und B-Zellen. Bei den übrigen nur einzelne Zellen des A-Zellsaumes betroffen; Granulierung vermindert, Cytoplasma nur noch schwach angefärbt. Inselgrösse und Durchblutung normal.

TABELLE 5

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter kurzfristiger, 5-tägiger Belastung mit Butylbiguanid in einer Gesamtdosierung von 1200 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) |         |   | B-Zellen          |   |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|---------|---|-------------------|---|
|              |          |          |       |                             |         |   |                   |   |
| IV 39 m+     | 474      | 1119     | 2,33  | Degranul. mittel,           | Vakuol. |   | Degranul. mittel  |   |
| IV 39 c+     | 110      | 218      | 1,98  | "                           | "       | " | "                 | " |
| IV 56 +      | 364      | 786      | 2,02  | Degranul. schwach,          |         |   | Degranul. schwach |   |
| IV 77 +      | 319      | 836      | 2,62  | Degranul. mittel            |         |   | "                 | " |
| IV 42 m      | 565      | 1257     | 2,24  | Degranul. schwach           |         |   | "                 | " |
| IV 42 c      | 319      | 971      | 2,48  | "                           | "       |   | "                 | " |
| IV 47 m      | 471      | 1042     | 2,22  | Degranul. stark,            | Vakuol. |   | Degranul. mittel  |   |
| IV 47 c      | 402      | 842      | 2,01  | Degranul. stark,            | Vakuol. |   | "                 | " |
| IV 55        | 491      | 1121     | 2,28  | Degranul. mittel,           | Vakuol. |   | normal            |   |
| IV 80 m      | 483      | 960      | 1,99  | "                           | "       | " | Degranul. mittel  |   |
| IV 80 c      | 380      | 793      | 2,08  | "                           | "       | " | "                 | " |
| IV 87 m      | 470      | 1025     | 2,18  | "                           | "       | " | Degranul. schwach |   |
| IV 87 c      | 515      | 1066     | 2,06  | "                           | "       | " | "                 | " |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $2,2 \pm 0,28$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Durchgehend verminderte A-Zellgranulierung. In manchen Inseln bis zu 50 % der A-Zellen vakuolisiert mit optisch leeren perinukleären Plasmahöfen. Daneben seltener auch Inseln mit fast normalem A-Zellsaum.

Im Vergleich zu den A-Zellen B-Zellen schwächer entgranuliert, keine Vakuolisierung.

Spontan verendete Tiere zeigen gleiche Befunde. Inseln nach Volumen und Durchblutung normal.

+ spontan am 1. Tag verendete Tiere nach einer Gesamtdosierung von 300 mg/kg Butylbiguanid.

TABELLE 6

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter langfristiger, 131-tägiger Belastung mit Phenylaethylbiguanid in einer Gesamtdosierung von 1981,1 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen       |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|----------------|
| D 94         | 321      | 935      | 2,9   | Degranul. stark,            | Vakuol. normal |
| D 99         | 420      | 949      | 2,26  | " "                         | " "            |
| D 299        | 317      | 854      | 2,3   | " "                         | " "            |
| D 331 m      | 423      | 840      | 1,95  | " "                         | " "            |
| D 331 c      | 481      | 977      | 2,04  | " "                         | " "            |
| D 325 ++     | 338      | 868      | 2,75  | kein Befund                 | "              |
| D 321        | 341      | 788      | 2,30  | Degranul. stark,            | Vakuol. "      |
| D 337 +      | 382      | 862      | 2,26  | kein Befund                 | "              |
| D 356        | 510      | 1043     | 2,00  | Degranul. stark,            | Vakuol. "      |
| D 326        | 428      | 851      | 1,98  | " "                         | "              |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $2,26 \pm 0,49$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Bei fast allen Tieren schwerste A-Zellveränderungen; Entgranulierung bis zur Vakuolisierung des ganzen Zellkörpers. Der A-Zellsaum erscheint stellenweise wie ein helles Band um die zentral liegenden, unveränderten B-Zellen.

Daneben Vorkommen fast normal granulierter A-Zellen. Inseldurchblutung normal.

+ nach 83 Tagen bei einer Gesamtdosis von 601,8 mg/kg Körpergewicht spontan verendet.

++ nach 120 Tagen spontan verendet.

TABELLE 7

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter langfristiger, 131-tägiger Belastung mit Thioacetamid in einer Gesamtdosierung von 537,6 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|----------|
| T 88         | 417      | 847      | 2,01  | Degranulierung mittel       | normal   |
| T 302        | 473      | 854      | 1,81  | "                           | "        |
| T 311        | 493      | 865      | 1,75  | "                           | "        |
| T 313        | 530      | 984      | 1,86  | "                           | "        |
| T 314        | 536      | 906      | 1,69  | "                           | "        |
| T 316        | 415      | 700      | 1,69  | "                           | "        |
| T 319        | 864      | 1416     | 1,64  | Degranulierung schwach      | "        |
| T 328        | 437      | 813      | 1,86  | "                           | "        |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $1,79 \pm 0,22$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Granulaverarmung der A-Zellen. Immer nur Teile des A-Zellsaumes betroffen. B-Zellen normal. Bei einigen Tieren entzündlich infiltrierte Gangproliferate des exkretorischen Parenchyms.

TABELLE 8

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter langfristiger, 131-tägiger gemeinsamer Belastung mit Phenyläthylbiguanid in einer Gesamtdosierung von 1981,1 mg/kg und Thioacetamid in einer Gesamtdosierung von 5375,6 mg/kg Körpergewicht.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen    |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|-------------|
| DT 308 +     | 324      | 856      | 2,64  | kein Befund                 | kein Befund |
| DT 89 ++     | 422      | 1186     | 2,81  | " "                         | " "         |
| DT 303       | 217      | 733      | 3,83  | Degranul. schwach           | normal      |
| DT 322       | 333      | 994      | 2,99  | Degranul. mittel, Vakuol.   | "           |
| DT 323       | 283      | 867      | 3,06  | " "                         | "           |
| DT 339       | 255      | 835      | 3,28  | Degranul. schwach, Vakuol.  | "           |
| DT 345       | 294      | 952      | 3,14  | Degranul. mittel,           | "           |
| DT 355       | 385      | 1172     | 3,04  | Degranul. stark.            | "           |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $3,04 \pm 0,34$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

A-Zelldegranulierung bis zur Vakuolisierung; teilweise den ganzen Randsaum aus A-Zellen betreffend. An den B-Zellen keine Veränderungen. Bei einigen Tieren Gangproliferate des exkretorischen Parenchyms.

- + Spontanotod nach 81 Belastungstagen mit einer Gesamtdosierung von 601,8 mg/kg Phenyläthylbiguanid und 1738,0 mg/kg Thioacetamid.
- ++ Spontanotod nach 120 Belastungstagen mit einer Gesamtdosierung von 1961,1 mg/kg Phenyläthylbiguanid und 5255,6 mg/kg Thioacetamid.

TABELLE 9

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter langfristiger 140-tägiger gemeinsamer Belastung mit Thioacetamid in einer Gesamtdosierung von 4760 mg/kg und Butylbiguanid in einer Gesamtdosierung von 3300 mg/kg Körpergewicht.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|----------|
| WT 205 +     | 322      | 628      | 1,95  | normal                      | normal   |
| WT 207       | 468      | 904      | 1,86  | "                           | "        |
| WT 208       | 394      | 663      | 1,68  | "                           | "        |
| WT 209       | 456      | 753      | 1,65  | "                           | "        |
| WT 210       | 403      | 748      | 1,86  | "                           | "        |
| WT 216       | 501      | 967      | 1,93  | "                           | "        |
| WT 230       | 505      | 885      | 1,75  | "                           | "        |
| WT 252       | 471      | 902      | 1,94  | "                           | "        |
| WT 268       | 454      | 894      | 1,97  | "                           | "        |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $1,85 \pm 0,2$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Keine Veränderungen der Inselzellen.

Deutliche Proliferation der Ausführungsgänge des exkretorischen Parenchyms. Zarte Fibrosierung und dichte rundzellige Infiltrierung in der Umgebung der Wucherungen.

+ Mit 70 Tagen verendet nach einer Gesamtdosierung von 700 mg/kg Butylbiguanid und 1000 mg/kg Thioacetamid.

## BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Nach langfristiger, 130-tägiger Belastung mit Butylbiguanid in einer etwa 12-fach höheren Dosis als der klinischen entspricht (Tabelle 3), ergaben sich am Inselapparat der Ratten keine Veränderungen an den A- und B-Zellen. Dagegen wurden nach entsprechend gleicher Dosierung des Butylbiguanid im Kurzversuch (Tabelle 4) bei der Hälfte der Tiere geringgradige A-Zellgranulierungen nachgewiesen. Trotzdem entsprach die A-B-Zellenrelation mit 1,88 fast dem Normalwert von 1,92. Starke A-Zellveränderungen wie Degranulierungen und teilweise Vakuolisierungen konnten unter Butylbiguanid erst beobachtet werden, wenn wesentlich höhere Substanzdosierungen im Kurzversuch erfolgten (Tabelle 5). Die hierfür notwendige Dosis entsprach der 72-fachen klinisch üblichen Menge. Butylbiguanid wirkte dann stark toxisch, die Hälfte der Tiere starb spontan nach der ersten Gabe von 300 mg/kg Körpergewicht. Die B-Zellen waren in dieser Gruppe schwach degranuliert.

Die erhöhte A-B-Zellenrelation von 2,2 könnte für A-Zelluntergang sprechen.

Im langfristigen Belastungsversuch mit Phenyläthylbiguanid (Tabelle 6) zeigten sich Degranulierungen und vereinzelt Vakuolisierungen an den A-Zellen. Diese Veränderungen entsprachen denen unter der 72-fachen therapeutischen Butylbiguaniddosierung, obwohl hier vom Phenyläthylbiguanid nur eine bis zu 16-fache klinische Dosis gegeben wurde. Demgegenüber erschienen die B-Zellen normal. Die A-B-Zellenrelation von 2,26 war im Vergleich zur normalen von 1,92 sicher erhöht. Wegen der Befunde an den A-Zellen könnte die Erhöhung der Relation durch den Schwund dieses Zelltyps erklärt werden.

Unter langfristiger Belastung mit der leberzelltoxischen Substanz Thioazetamid (Tabelle 7) war ein Granulaschwund an den A-Zellen zu beobachten. Er war allerdings geringeren Grades als unter hochdosiertem Butylbiguanid und unter Phenyläthylbiguanid. Die B-Zellen waren unverändert.

Ein weiterer unter Thioazetamid beobachteter Befund waren entzündliche Gangproliferate des exkretorischen Pankreasparenchyms.

Die A-B-Zellrelation wurde durch Thioazetamid nur unwesentlich von 1,92 auf 1,79 gesenkt. Das Inselzellbild war auch nicht in dem Masse verändert, dass Untergang einer Zellart zu erwarten gewesen wäre.

Die histologische Untersuchung der kombiniert mit Phenyläthylbiguanid und Thioazetamid über längere Zeit belasteten Tiere (Tabelle 8) zeigte keine wesentlich anderen Veränderungen an den Inselzellen, als sie durch eine der beiden Substanzen allein entstanden waren. Die B-Zellen waren auch hier unverändert, die A-Zellen teilweise entgranuliert und vakuolisiert. Morphologisch fiel im Gegensatz zu den Inselveränderungen bei den anderen Versuchsgruppen auf, dass die A-Zellsäume in den Inseln entweder ganz fehlten oder stark verschmälert waren. Dieser Befund spricht zusammen mit der signifikant zu Ungunsten der A-Zellen auf

3,04 verschobenen A-B-Zellenrelation dafür, dass sich hier die Wirkung beider Substanzen auf die A-Zellen potenziert hat und deshalb mehr A-Zellnekrosen erfolgt sind.

A- und B-Zellen waren völlig normal in einer weiteren Versuchsgruppe, die in Analogie zu der vorhergehenden mit Butylbiguanid und Thioazetamid über längere Zeit belastet wurde (Tabelle 9). Auch die A-B-Zellenrelation von 1,85 entsprach der Norm. Ein Nebenbefund in dieser Gruppe waren auffallend starke Gangproliferate des exkretorischen Pankreasparenchyms.

Der Vergleich der Wirkung von Phenyläthyl- und Butylbiguanid auf das Inselorgan ergibt somit, dass beide auf die A-Zellen der Inseln in Form einer Granulaverarmung und schliesslich einer Vakuolisierung des Cytoplasmas einwirken. Dabei zeigt sich, dass im langfristigen Belastungsversuch eine Gewöhnung der A-Zellen an das Butylbiguanid stattfindet und somit die A-Zellen am Versuchsende unverändert sind. Die Wirkung des Butylbiguanid wird nur im Kurzversuch deutlich, wo schon bei etwa der 12-fachen therapeutischen Dosis eine Verarmung an Cytoplasmagranula der A-Zellen beginnt. Bei wesentlich höheren Dosierungen, nämlich der 72-fachen therapeutischen Dosis wird diese Wirkung auf die A-Zellen so stark, dass eine ausgesprochene Cytoplasmavakuolisierung entsteht. Die dabei gleichzeitig beobachteten Veränderungen an den B-Zellen müssen im Rahmen der toxischen Gesamtwirkung der zugeführten Substanz, die in dieser Dosis für etwa die Hälfte der Tiere tödlich wirkt, als eine zunächst nur auf Grund der Toxizität zu erklärende Veränderung aufgefasst werden.

Im Gegensatz zu Butylbiguanid wirkt Phenyläthylbiguanid nach langfristiger Zufuhr in 16-facher therapeutischer Dosierung noch direkt auf die A-Zellen und verursacht so schwere Veränderungen wie Vakuolisierung ihres Cytoplasmas. Beide Biguanidsubstanzen wirken also bevorzugt auf die A-Zellen des Inselorgans, wobei die Untersuchungen eine deutlich stärkere Wirkung des Phenyläthylbiguanid gegenüber dem Butylbiguanid zeigen, wenn Dosierungen angewandt werden, die gleich stark blutzuckersenkend wirken.

In einer anderen Versuchsanordnung wurde das Verhalten beider Biguanidsubstanzen bei gleichzeitiger Leberparenchymschädigung durch Thioazetamid untersucht.

Die experimentelle Zufuhr des Thioazetamid verursacht in der angewandten Dosis nach einer Versuchszeit von über 80 Tagen die Entwicklung von Lebercirrhosen bei einem hohen Prozentsatz der Versuchstiere (GEORGII u. MEHNERT 24: GEORGII, MEHNERT, PROSIEGEL, KASTEIN, STOCK 25).

In den vorliegenden Untersuchungen wurde nur das Pankreas derjenigen Tiere untersucht, die nach einer 130-tägigen Versuchsdauer alle Veränderungen einer Lebercirrhose aufwiesen. Die während der Leberparenchymschädigung gleichzeitig durchgeführte Biguanidbelastung hat zu unterschiedlichen Wirkungen der beiden Substanzen geführt.

Während Butylbiguanid, ebenso wie bei seiner isolierten Zufuhr, nach so langen Versuchszeiten keine Veränderungen des Inselorgans bewirkt, hat Phenyläthylbiguanid eine schwere Veränderung der A-Zellen verursacht. Es fanden sich nicht nur eine Granulaverarmung und Vakuolisierung der A-Zellen, sondern die A-B-Zellenrelation war entscheidend zu Ungunsten der A-Zellen verändert.

Nach den vorliegenden Zählungen bedeutet diese Relationsverschiebung eine zahlenmässige Reduktion der A-Zellen. In Verbindung mit den histologisch fassbaren Degranulierungen und Vakuolisierungen muss deshalb der Verlust an A-Zellen als eine besonders schwere Wirkung des Phenyläthylbiguanid auf dieses Zellsystem gedeutet werden.

Die Verschiebung der A-B-Zellenrelation bei Tieren mit Phenyläthylbiguanidzufuhr und gleichzeitiger Lebercirrhose bedeutet eine stärkere Wirkung dieses Biguanids auf die A-Zellen als ohne zusätzliche Leberschädigung.

Diese stärkere Wirkung des Phenyläthylbiguanids bei Tieren mit Lebercirrhosen kann durch folgende Überlegungen erklärt werden. Die normalen Funktionen der Leber sind durch die Cirrhose sicher eingeschränkt und verändert. Ein derartig gestörter Leberstoffwechsel kann, wie sich unter langfristiger Belastung nur mit Thioazetamid zeigte, auch eine Granulaverarmung der A-Zellen verursachen. Dieser Granulaschwund an den A-Zellen unter Thioazetamid ist allerdings wesentlich schwächer als der unter Phenyläthylbiguanidbelastung, weil er z.B. nicht zu Vakuolisierungen führt; er wird als Zeichen einer Funktionssteigerung der A-Zellen durch vermehrten Glucagonverbrauch gedeutet, der bis zur Erschöpfung der Zellen führen kann (CREUTZFELDT u. MOENCH 13).

Bei einem Vergleich der Inselveränderungen nach Phenyläthylbiguanid oder Leberschädigung durch Thioazetamid ergeben sich unter ersteren wesentlich schwere A-Zellveränderungen als unter dem lebertoxisch wirkenden Thioazetamid, obwohl nach Phenyläthylbiguanid keine morphologisch sichtbaren Leberveränderungen entstehen. Daraus ergibt sich, dass Phenyläthylbiguanid anscheinend direkt cytotoxisch auf die A-Zellen wirkt, während Thioazetamid hierfür den Umweg über eine gestörte Leberfunktion braucht. Bei einer kombinierten Belastung mit diesen Stoffen addieren sich ihre unterschiedlichen Wirkungsprinzipien, und es kommt als Ausdruck davon zu stärksten A-Zellbelastungen, die schliesslich zum A-Zellschwund führen.

Als weiterer Gesichtspunkt zur Erklärung der stärkeren Wirkung des Phenyläthylbiguanids bei Tieren mit Lebercirrhose ist die eingeschränkte Entgiftungsfunktion der cirrhotisch umgebauten Leber zu beachten, weil dadurch die Substanz unverändert und deshalb stärker cytotoxisch an den A-Zellen angreifen kann.

Zusammenfassend ergibt sich, dass auf zwei Arten A-Zellveränderungen entstehen können. Erstens indirekt über einen veränderten Leberstoffwechsel bei Lebercirrhosen und zweitens direkt durch cytotoxische Wirkung auf die A-Zellen. Wahrscheinlich entstehen die A-Zellveränderungen durch Biguanide über beide Wirkungsmechanismen. Es scheint jedoch, dass besonders beim Phenyläthylbiguanid die direkte cytotoxische Wirkung auf die A-Zellen im Vordergrund steht. Butylbiguanid

hat gegenüber Phenyläthylbiguanid in Dosierungen mit gleich starker Blutzuckersenkung eine schwächere Wirkung auf die A-Zellen, A-Zellveränderungen, die denen unter Phenyläthylbiguanid entsprechen, entstehen unter Butylbiguanid erst in Dosierungen, die eine allgemeine toxische Wirkung auf den Organismus haben; ein Ausdruck dieser Toxizität ist die zusätzliche Granulaverarmung der B-Zellen.

Bei gleichzeitiger Leberzellschädigung und Biguanidbelastung scheinen sich die beiden Mechanismen der A-Zellschädigung in ihrer Wirkung auf diesen Zelltyp zu addieren; hierbei wird auch die angenommene cytotoxische Wirkung der Biguanide bei Cirrhosestoffwechsel entsprechend verstärkt.

Der Vergleich unserer Befunde mit anderen Autoren führt zu weitgehenden Übereinstimmungen.

Der normale B : A-Quotient unserer Ratten von 1,92 liegt in derselben Größenordnung wie der von POKRAJAC und Mitarb. 53 angegebene von 1,74. Sie errechneten den Wert an gleichalten, etwas schwereren Ratten.

Granulaverarmung, Degranulierung und Vakuolisierung sind unter den Guanidinderivaten Synthalin A und B sowie Phenyläthylbiguanid beschrieben. Am Kaninchen wurden sie festgestellt von DAVIS 13; FODDEN 20; CREUTZFELDT u. TECKLENBORG 11, 12; am Meerschweinchen von RUNGE 56; CREUTZFELDT u. TECKLENBORG 11, 12; CREUTZFELDT u. MOENCH 9 und an der Ratte von v.HOLT, v.HOLT, KRÖNER u. KÜHNAU 38; CREUTZFELDT u. TECKLENBORG 11, 12.

Diese morphologisch sichtbaren A-Zellveränderungen wurden von einigen Autoren als Ursache der blutzuckersenkenden Wirkung von Synthalin aufgefasst (v.HOLT, v.HOLT, KRÖNER u. KÜHNAU 38; v.HOLT u. FERNER 37; FERNER u. RUNGE 18). Nach ihrer Ansicht entsteht durch die A-Zellzerstörung ein Glucagonmangel, der dann wegen Überwiegen des antagonistischen Insulins zur Hypoglykämie führt. Diese Annahme ist nicht sehr wahrscheinlich, weil beim Kaninchen durch Synthalin B trotz Blutzuckersenkung keine A-Zellveränderungen entstehen (DAVIS 13).

Umgekehrt konnte FODDEN (20) die A-Zellen elektiv mit Kobaltchlorid schädigen und dadurch jedoch keine Hypoglykämie erzeugen. Er lehnt deshalb ebenfalls die Glucagonmangeltheorie als Ursache der Biguanidwirkung auf den Blutzuckerspiegel ab, ähnlich wie CREUTZFELDT u. TECKLENBORG 11, 12; CREUTZFELDT u. MOENCH 9 sowie CREUTZFELDT 6. In ihren Versuchen fehlte unter Synthalin A und noch stärker unter Phenyläthylbiguanid eine Parallelität zwischen dem Ausmass der A-Zellschädigung und dem hypoglykämisierenden Effekt der betreffenden Substanzen. Ausserdem gelang es durch laufende Glucagoninjektionen nicht, den hypoglykämischen Schock durch Synthalin zu verhindern.

In unseren Untersuchungen ergab sich eine Diskrepanz zwischen dem Ausmass der A-Zellschädigung und dem Grad der Hypoglykämie, die durch Biguanide erzeugt werden konnte. Besonders deutlich war das im Kurzversuch mit hochdosier-

tem Butylbiguanid. Die Tiere starben teilweise im hypoglykämischen Schock mit Blutzuckerwerten von 30 mg%, während in den Inseln etwa ein Drittel der A-Zellen wenig oder garnicht verändert war.

Bei einem Vergleich der beiden Biguanidsubstanzen in Dosierungen, die gleich stark hypoglykämisierend wirkten, waren die A-Zellen unter Phenyläthylbiguanid deutlich granulaverarmt, dagegen unter Butylbiguanid normal. Umgekehrt fanden wir einen Granulaverlust der A-Zellen unter Thioazetamid, von dem keine blutzuckersenkende Wirkung bekannt ist.

A-Zelldegranulierungen können also ohne Hypoglykämie vorhanden sein wie unter Thioazetamid, andererseits kann bei bestehender Blutzuckersenkung ein normales A-Zellbild vorliegen wie unter Butylbiguanid. Wir kommen daher ebenfalls zu der Ansicht, dass A-Zellveränderungen und dadurch entstehender Glucagonmangel nicht mit der blutzuckersenkenden Eigenschaft der Biguanide zusammenhängen.

Eng verknüpft mit der Frage des Wirkungsmechanismus der Biguanide ist die Klärung der Ursache der A-Zellveränderungen unter Guanidinderivaten. Wenn sich herausstellt, dass die Guanidine nur direkt cytotoxisch auf die A-Zellen einwirken, würde das die These vom Glucagonmangel als Ursache der Blutzuckersenkung durch diese Substanzen unterstützen (v. HOLT, v. HOLT, KRÖNER u. KÜHNAU 38; v. HOLT u. FERNER 37; FERNER u. RUNGE 18). Andererseits könnte die A-Zelldegranulierung auch als sekundäre Degeneration infolge Erschöpfung erklärt werden (DAVIS 13; CREUTZFELDT u. TECKLENBORG 11, 12). Die übermässige Glucagonproduktion entsteht nach Ansicht der Autoren nicht nur gegenregulatorisch im Gefolge der durch die Guanidinderivate erzeugten Hypoglykämie; dann müsste eine Parallelität zwischen dem Ausmass der Blutzuckersenkung und dem Grad der A-Zellschädigung erwartet werden. Vielmehr werden die Befunde als mehr oder weniger spezifische Reaktion der A-Zellen auf Veränderungen des übrigen Stoffwechsels, speziell des Leberstoffwechsels gedeutet (CREUTZFELDT 6; CREUTZFELDT u. MOENCH 9).

Für eine direkte a-zelltoxische Wirkung der Biguanide könnte in unseren Versuchen sprechen, dass unter Phenyläthylbiguanidbelastung keine morphologisch fassbaren Leberveränderungen nachweisbar waren, während deutliche A-Zelldegranulierungen auftraten.

Dagegen spricht für die Wirkung unspezifischer Stoffwechselveränderungen auf die A-Zellen, und somit auch für die Möglichkeit einer indirekten A-Zellschädigung durch Biguanide, dass bei Tieren mit experimentell durch Thioazetamid erzeugten Lebercirrhosen eine Granulaverarmung der A-Zellen nachweisbar ist.

Deshalb muss vorläufig offen bleiben, ob eine primäre oder sekundäre Beeinflussung des A-Zellsystems durch Biguanidverbindungen vorliegt. Möglicherweise wirken beide Mechanismen zusammen und es überwiegt bei den Substanzen jeweils eine Wirkungsart. Beispielsweise steht beim Phenyläthylbiguanid die direkte a-zelltoxische Wirkung neben der indirekten Beeinflussung dieses Zellsystems im Vordergrund.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass degenerative Veränderungen der A-Zellen des Inselorgans weder die Ursache noch die direkte Folge der hypoglykämisierenden Wirkung von Biguanidverbindungen sind. Es muss eine cytotoxische Wirkung von Biguaniden auf die A-Zellen angenommen werden, die entweder unmittelbar oder über den Umweg einer Leberzelltoxizität wirksam wird.

## VERSUCHSERGEBNISSE

TABELLE 10

Zusammenfassung der Versuchsgruppen von Teil II der Arbeit mit Angabe der zugeführten Substanzen, ihrer Dosis und der Versuchsdauer.

| Substanz                                  | Gesamtdosis<br>in mg/kg | Körpergewicht<br>in Gramm | Versuchstage | Ergebnisse<br>in Tab. |
|-------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------|-----------------------|
| Tolbutamid                                | 375                     | 100                       | 5            | 11                    |
| Tolbutamid gemeinsam<br>mit Butylbiguanid | 375<br>250              | 100                       | 5            | 12                    |
| Tolbutamid gemeinsam<br>mit Butylbiguanid | 4400<br>3300            | 200                       | 140          | 13                    |

TABELLE 11

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter kurzfristiger, 5-tägiger Belastung mit N- (4-Methyl-Benzolsulfonyl) -N'-Butyl-Harnstoff (Tolbutamid) in einer Gesamtdosierung von 375 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen               |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|------------------------|
| R 20         | 593      | 1073     | 1,82  | normal                      | normal                 |
| R 21         | 418      | 895      | 2,05  | "                           | Degranulierung mittel  |
| R 22         | 521      | 1038     | 1,99  | "                           | " "                    |
| R 23         | 509      | 953      | 1,84  | "                           | " "                    |
| R 24         | 760      | 1490     | 1,96  | "                           | Degranulierung schwach |
| R 25         | 504      | 779      | 1,90  | "                           | normal                 |
| R 26         | 514      | 952      | 1,80  | "                           | "                      |
| R 27         | 549      | 1009     | 1,84  | "                           | Degranulierung mittel  |
| R 29         | 444      | 899      | 2,01  | "                           | " "                    |
| R 30         | 645      | 1281     | 1,99  | "                           | " "                    |
| R 31         | 316      | 630      | 2,03  | "                           | " "                    |
| R 33         | 487      | 910      | 1,87  | "                           | " "                    |
| R 34         | 516      | 1049     | 2,01  | "                           | " "                    |
| R 35         | 293      | 480      | 1,98  | "                           | Degranulierung schwach |
| R 37         | 442      | 706      | 1,60  | "                           | " "                    |
| R 38         | 331      | 670      | 2,16  | "                           | Degranulierung mittel  |
| R 49         | 533      | 999      | 1,88  | "                           | " "                    |
| R 62         | 383      | 723      | 1,89  | "                           | " "                    |
| R 65         | 464      | 877      | 1,88  | "                           | " "                    |
| R 89         | 707      | 1479     | 2,17  | "                           | " "                    |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $1,9 \pm 0,3$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Durchgehend Granulierung der B-Zellen vermindert. Plasma homogen von zartblauer Farbe. Vereinzelte perinucleäre Höfe. Keine Kernteilungsfiguren sichtbar. Deutliche Hyperämie der Inseln. A-Zellen unverändert.

TABELLE 12

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter kurzfristiger, 5-tägiger Belastung mit einer Kombination von Butylbiguanid in Gesamtdosierung von 250 mg/kg und N- (4-Methyl-Benzolfulfonyl) -N'-Butyl-Harnstoff (Tolbutamid) in Gesamtdosierung von 375 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen          |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|-------------------|
| WR 70        | 360      | 621      | 1,73  | kein Befund                 | kein Befund       |
| WR 74        | 420      | 735      | 1,75  | Degranul. mittel            | Degranul. mittel  |
| WR 75        | 271      | 500      | 1,85  | " "                         | " "               |
| WR 83        | 590      | 986      | 1,67  | " "                         | " "               |
| WR 85        | 539      | 893      | 1,66  | Degranul. schwach           | " "               |
| WR 86        | 400      | 736      | 1,84  | Degranul. mittel            | " "               |
| WR 51        | 542      | 918      | 1,69  | " "                         | " "               |
| WR 60        | 684      | 1045     | 1,53  | " "                         | " "               |
| WR 61        | 430      | 790      | 1,84  | " "                         | " "               |
| WR 66        | 487      | 735      | 1,51  | Degranul. schwach           | Degranul. schwach |
| WR 63        | 519      | 798      | 1,54  | Degranul. mittel            | Degranul. mittel  |
| WR 67 +      | 595      | 1079     | 1,8   | normal                      | normal            |
| WR 174 +     | 541      | 942      | 1,74  | "                           | "                 |
| WR 178       | 514      | 860      | 1,67  | Degranul. schwach           | Degranul. schwach |
| WR 176 +     | 580      | 1109     | 1,90  | normal                      | normal            |
| WR 76        | 490      | 817      | 1,67  | Degranul. mittel            | Degranul. mittel  |
| WR 78        | 458      | 765      | 1,67  | " "                         | " "               |
| WR 82        | 273      | 496      | 1,82  | " "                         | " "               |
| WR 43        | 532      | 893      | 1,68  | " "                         | " "               |
| WR 44        | 644      | 1144     | 1,78  | " "                         | " "               |
| WR 45        | 711      | 1181     | 1,66  | " "                         | " "               |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $1,71 \pm 0,2$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Insbesondere die B-Zellen sind granulaverarmt mit blassgrau gefärbtem Cytoplasma. A-Zellen demgegenüber geringer entgranuliert. 3 Tiere mit höherem Körpergewicht zeigen normales Zellbild.

Inseidurchblutung gesteigert.

+ Tiere mit höherem Körpergewicht (200 g, vgl. Tabelle 10).

TABELLE 13

A-B-Zellenrelation und histologische Veränderungen des Inselorgans unter langfristiger, 140-tägiger Belastung mit einer Kombination aus Butylbiguanid in Gesamtdosierung von 3000 mg/kg und N- (Methyl-Benzolsulfonyl) N'-Butyl-Harnstoff (Tolbutamid) in einer Gesamtdosierung von 4400 mg/kg.

| Versuchstier | A-Zellen | B-Zellen | B : A | A-Zellen<br>(Veränderungen) | B-Zellen          |
|--------------|----------|----------|-------|-----------------------------|-------------------|
| WR 182       | 303      | 691      | 2,28  | Degranul. schwach           | Degranul. schwach |
| WR 185       | 350      | 817      | 2,14  | " "                         | " "               |
| WR 242       | 450      | 993      | 2,20  | normal                      | normal            |
| WR 243       | 479      | 1016     | 2,12  | Degranul. schwach           | "                 |
| WR 244       | 426      | 987      | 2,32  | normal                      | Degranul. schwach |
| WR 245       | 287      | 783      | 2,11  | Degranul. schwach           | " "               |
| WR 246       | 513      | 1204     | 2,00  | " "                         | " "               |
| WR 247       | 442      | 829      | 1,87  | " "                         | " "               |
| WR 248       | 483      | 1002     | 2,08  | " "                         | " "               |
| WR 266       | 320      | 754      | 2,15  | normal                      | normal            |

Durchschnittlicher B : A Quotient:  $2,18 \pm 0,31$

#### Zusammenfassender histologischer Befund

Geringgradige Degranulierung der A- und B-Zellen, teils gleichzeitig, teils unabhängig voneinander. Inseldurchblutung normal. Proliferation der Endstücke des exkretorischen Parenchyms. In der Proliferation kleinste Gruppen von B-Zellen.

## BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Im zweiten Versuchsteil wurden Tiere zunächst kurzfristig mit dem Sulfonylharnstoff "Tolbutamid" belastet (Tabelle 11). Es traten hier wie zu erwarten Degranulierungen und auch vereinzelt Vakuolisierungen an den B-Zellen auf, die allgemein als Ausdruck einer funktionellen Leistungssteigerung der B-Zellen gewertet werden. Die A-B-Zellenrelation war mit 1,9 nicht verschoben. Das A-Zellbild war normal.

Dieser Versuch entspricht einer Reproduktion bekannter Veränderungen. Sie sollten den nach Biguaniden zu erwartenden Befunden am gleichen Tiergut und mit gleichen histologischen Färbeverfahren gegenübergestellt werden.

Bei kombinierter kurzfristiger Belastung mit Butylbiguanid und Tolbutamid (Tabelle 12) zeigten sich A-Zelldegranulierungen, die stärker waren als im gleichartigen Versuch unter alleiniger Butylbiguanidbelastung (Tabelle 4). Die B-Zellveränderungen entsprachen denen der oben beschriebenen Versuchsgruppe mit Tolbutamid. In einem weiteren Versuch mit langfristiger, kombinierter Belastung mit Butylbiguanid und Tolbutamid (Tabelle 13) waren die Degranulierungen an beiden Zelltypen schwächer als in den vorangehenden Versuchen. Eine Besonderheit dieser Gruppe waren kleinste B-Zellinseln zwischen den Endstücken des exkretorischen Parenchyms.

Die A-B-Zellenrelation war weder in langfristigen noch in den kurzfristigen Kombinationsversuchen auffallend verschoben.

Die vergleichende Betrachtung der Versuchsergebnisse zeigt, dass in den Versuchen mit kurzfristigen Sulfonylharnstoffgaben, unabhängig davon, ob zusammen mit Butylbiguanid oder nicht belastet wurde, stärkere B-Zelldegranulierungen auftreten als bei langdauernder Belastung.

Die Beeinflussung der A-Zellen durch Butylbiguanid verhält sich analog, d. h. die Degranulierungen sind fast nur in kurzfristigen Versuchen vorhanden, nicht in langfristigen.

Die Feststellung, dass langdauernde Gaben der Substanzen geringere Zellveränderungen hervorrufen, ist durch die Adaptation der Inselzellen an diese Stoffe zu erklären. An den A-Zellen unter gemeinsamer Butylbiguanid-Tolbutamidbelastung auftretende Degranulierungen entsprechen der in früheren Versuchsgruppen gefundenen Wirkung des Butylbiguanid auf diesen Zelltyp. Sie sind nur im Kurzversuch fassbar und werden durch gleichzeitige Tolbutamidgaben verstärkt.

Die B-Zellgranula werden als Speicherform des Insulins aufgefasst. Daneben gibt es aber auch eine färberisch nicht fassbare Phase des Insulins; deshalb können weniger granulierte B-Zellen trotzdem viel Insulin enthalten (WRENSHALL, ANDRUS u. MAYER 71). Granulaverarmung der B-Zellen kann bei gesteigerter Aktivität ebenso wie bei Atrophie oder vermindertem Insulinbedarf bestehen (KRACHT 40; HAIST 32).

Die Degranulierung der B-Zellen unter Sulfonylharnstoffbelastung (Tolbuta-

mid, Carbutamid) wird im Zusammenhang mit gleichzeitig beobachteten Befunden wie Zellkernvergrößerung, vermehrten B-Zellmitosen und Zunahme des Inselvolumens übereinstimmend als Zeichen einer Funktionssteigerung aufgefasst (ASHWORTH u. HAIST 2; CREUTZFELDT, DETERING u. WELTE 7; GEPTS 26; KRACHT, v.HOLT u. v.HOLT 42; KRACHT u. RAUSCH-STROOMANN 43).

Diese Deutung morphologischer Befunde an den B-Zellen unter Sulfonylharnstoffeinwirkung bestätigt sich durch biochemische Untersuchungen am Tier. Während Tolbutamidbelastung wurde bei Hunden (ROOT 55) und bei Kälbern (PFEIFFER und Mitarb. 52) die momentane Insulinreserve des Pankreas erheblich vermindert gefunden. Ausserdem stellten in Ergänzung zu diesen Befunden GOETZ u. EGDAHL 28 bei Hunden und PFEIFFER und Mitarb. 50, 51 bei Ratten einen Anstieg der Insulinaktivität im Pfortaderblut nach Gaben von Tolbutamid fest.

Diese Versuchsergebnisse bedeuten also, dass unter der Einwirkung von Sulfonylharnstoff eine vermehrte Ausschüttung an Insulin aus dem Pankreas erfolgt, Durch welchen Mechanismus die Sulfonylharnstoffe die B-Zellen zu dieser Reaktion veranlassen, ist unbekannt. Darüber liegen zahlreiche Untersuchungen und Hypothesen vor, die hier im einzelnen nicht erläutert werden sollen (vergl. Übersicht bei CREUTZFELDT u. SÖLING 10).

In einem Versuch mit kurzfristiger Tolbutamidbelastung fanden wir im Rattenpankreas ebenfalls B-Zelldegranulierungen mit gleichzeitiger Inselvolumenvergrößerung, gesteigerter Durchblutung und normaler A-B-Zellenrelation wie es von KRACHT u. RAUSCH-STROOMANN 43; KRACHT, v.HOLT u. v.HOLT 42; GEPTS, CHRISTOPHE u. BELLENS 27; CREUTZFELDT, DETERING u. WELTE 7 beschrieben wurde.

Die Übereinstimmung unserer Ergebnisse nach insulierter, kurzfristiger Tolbutamidzufuhr beweisen die Richtigkeit unseres histologischen Färbeverfahrens und der Zellzählungen. Somit bedeutet diese Versuchsgruppe eine Kontrolle der in allen anderen Versuchen ebenfalls verwendeten Untersuchungsmethoden, die den Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren rechtfertigt.

Im Gegensatz zu GEPTS 26 und CREUTZFELDT, DETERING u. WELTE 7 wurden gehäufte B-Zellmitosen nicht beobachtet. Sie sind von den Autoren innerhalb der ersten Behandlungswoche mit Carbutamid und Tolbutamid beschrieben worden.

Die Degranulierung der B-Zellen unter Sulfonylharnstoffen erreicht ihr Maximum nach 3-5 Tagen. Später tritt als Zeichen einer Adaptation wieder eine stärkere, aber keineswegs der Norm entsprechende Granulierung auf (CREUTZFELDT u. SÖLING 10). Auch diesen Befund konnten wir mit den vorliegenden Ergebnissen insofern bestätigen, als nach langfristiger Belastung mit der Kombination von Butylbiguanid und Tolbutamid die B-Zellen weniger stark degranuliert waren als bei Anwendung der gleichen Substanzen über kurze Zeit. Darüberhinaus stellten wir fest, dass sich die A-Zellen unter Butylbiguanidbeeinflussung analog verhalten; das heisst die Degranulierungen dieses Zelltyps sind in langfristigen Versuchen

ebenfalls deutlich geringer als in kurzfristigen.

Die Versuche mit kombinierter Butylbiguanid-Tolbutamidbelastung, die im Teil II der Arbeit durchgeführt wurden, sind von Bedeutung, weil man in der Klinik festgestellt hat, dass primär gegen Sulfonylharnstoffbehandlung resistente Diabetiker durch zusätzliche Biguanidzufuhr befriedigend eingestellt werden konnten (MEHNERT 45; MEHNERT u. KRALL 46; MEHNERT u. GEORGII 47). Es ergaben sich jedoch in den Kombinationsversuchen mit den Methoden der morphologischen Untersuchung und Bestimmung der A-B-Zellenrelation keine Befunde, die eine ausreichende Erklärung für diese klinische Erfahrung liefern könnten.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Frage, ob blutzuckersenkende Biguanidverbindungen ebenso wie die Sulfonylhamstoffe über das Inselorgan des Pankreas wirksam werden, wurde nach Verabreichung der Substanzen an Ratten, teilweise in Verbindung mit induzierter Schädigung der Leber geprüft. Die morphologische Beurteilung des Inselorgans der Ratte durch histochemische Granuladarstellung und durch Bestimmung der A-B-Zellenrelation führte zu folgenden Ergebnissen:

1. Bei nicht toxischen und gleich stark blutzuckersenkenden Dosierungen der Biguanidsubstanzen entstehen unter Phenyläthylbiguanid A-Zellveränderungen, die wegen der Verschiebung der A-B-Zellenrelation als degenerative Zellveränderungen aufgefasst werden.
2. Butylbiguanid bewirkt derartige A-Zellveränderungen erst in sehr hohen, toxisch wirkenden Dosen.
3. Unter Butylbiguaniddosierung in therapeutisch üblichen Größenordnungen entsteht nur anfänglich eine geringe Entgranulierung der A-Zellen, während chronischer Belastung verschwindet dieser Befund.
4. Experimentelle Leberparenchymschäden durch Thioazetamid verursachen ebenfalls A-Zellschäden.
5. Während Tiere mit thioazetamidgeschädigter Leber unter zusätzlicher Phenyläthylbiguanidbelastung stärkste A-Zellveränderungen zeigen, wurde im Gegensatz dazu unter zusätzlicher Butylbiguanidzufuhr keinerlei Veränderung am Inselorgan festgestellt.

Aus diesen Befunden wird abgeleitet, dass A-Zelldegeneration und dadurch entstehender Glucagonmangel nicht die Ursache der blutzuckersenkenden Wirkung von Biguanidsubstanzen sein kann. Neben der Diskussion indirekter Schädigung der A-Zellen über den Leberstoffwechsel wird für die Substanz Phenyläthylbiguanid zusätzlich eine direkte A-Zelltoxizität angenommen.

Versuche mit kombinierter Butylbiguanid-Tolbutamidbelastung zeigten besonders im Kurzversuch an den B-Zellen Degranulierungen, wie sie für Sulfonylhamstoffwirkung bereits bekannt sind und an den A-Zellen eine Granulaverarmung, wie sie unter alleiniger Butylbiguanidbelastung beobachtet wurde.

Herrn Priv. Doz. Dr. A. GEORGII danke ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

## L I T E R A T U R

- 1 AMBROSE, A.M., DE EDS, F. and RATHER, L.J.:  
Toxicity of thioacetamide in rats.  
J.Industr.Hyg. 31, 158 (1949)
- 2 ASHWORTH, M.A. and HAIST, R.E.:  
Some effects of BZ 55 on the growth of the islets of Langerhans.  
Canad.med.Ass.J. 74, 975-976 (1956)
- 3 BARGMANN, W. und CREUTZFELDT, W.:  
Zur Morphologie des Alloxandiabetes.  
Klin.Wschr. 15, 268 (1949)
- 4 BOSS, H.:  
Vergleichende Untersuchungen zur Lebertoxizität des blutzuckersenkenden  
Phenyläthylbiguanid (DBI).  
Inaug.Diss. München 1960
- 5 CREUTZFELDT, W.:  
Zur Histophysiologie des Inselapparates.  
Z.Zellforsch. 34, 280 (1949)
- 6 CREUTZFELDT, W.:  
A-Zellveränderungen nach Synthalin und DBI und die Bedeutung des Glucagons für den Wirkungsmechanismus der Guanidinderivate.  
Mod.Probl.Pädiatr. IV 306-317 (1959)
- 7 CREUTZFELDT, W., DETERING, L. und WELTE, O.:  
Das B-Zellensystem von normalen und hypophysektomierten Ratten sowie von Kaninchen unter D 860 und diabetogenen Hormonen.  
Dtsch.med.Wschr. 36, 1564-1568 (1957)
- 8 CREUTZFELDT, W. und GERGINAT, G.:  
Glucosetoleranz und Inselregeneration bei teilpankreatomierten Ratten unter ACTH und langfristiger Behandlung mit N- (4-Methylbenzolsulfonyl) N'-Butyl-Harnstoff.  
Arzneimittelforsch. 8, 464-469 (1958)
- 9 CREUTZFELDT, W. und MOENCH, A.:  
Vergleichende Untersuchungen mit den blutzuckersenkenden Guanidinderivaten Synthalin B und Phenyläthylbiguanid (DBI) (Ein Beitrag zur Frage der sog. A-Zellgifte).  
Endokrinologie 36, 167 (1958)
- 10 CREUTZFELDT, W. und SÖLING, H.D.:  
Orale Diabetestherapie und ihre experimentellen Grundlagen.  
Ergeb.Inn.Med. u. Kinderheilk. 15, 1 (1960)

- 11 CREUTZFELDT, W. und TECKLENBORG, E.:  
Experimentelle Untersuchungen zur Funktion der A-Zellen der Pankreasinseln und zur Glucagonwirkung.  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm. 227, 23-61 (1955)
- 12 CREUTZFELDT, W. und TECKLENBORG, E.:  
Synthalinhypoglykämie, A-Zellen und Glucagon.  
Klin. Wschr. 43 (1955) 1
- 13 DAVIS, I.C.:  
Hydropic degeneration of alpha-cells of pancreatic islets produced by synthalin.  
A.J. Path. Bact. 64, 575-584 (1952)
- 14 DUNN, I.S., SHEEHAN, H.L. and McLEITCHIE, N.G.M.:  
Nekrosis of islets of Langerhans produced experimentally.  
J. Path. Bact. 55, 245 (1943)
- 15 FERNER, H.:  
Inselsystem des Pankreas.  
Thieme Stuttgart 1952
- 16 FERNER, H.:  
Die A- und B-Zellen in den Inseln als Entstehungsorte der antagonistischen Wirkstoffe Glucagon und Insulin.  
Mikroskop. 6, 1 (1951)
- 17 FERNER, H.:  
Beiträge zur Histobiologie der Langerhansschen Inseln des Menschen mit besonderer Berücksichtigung der Silberzellen und ihrer Beziehung zum Pankreasdiabetes.  
Virchows Arch. 309, 87 (1942)
- 18 FERNER, H. and RUNGE, W.:  
Synthalin A as selective mitotic poison acting on alpha-cells of the islets of Langerhans.  
Science 122, 420 (1955)
- 19 FERNER, H. und STOEKENIUS, W.:  
Die Cytogenese des Inselsystems beim Menschen.  
Z. Zellforschung 35, 147 (1950)
- 20 FODDEN, J.H.:  
Experiments with chemicals noxious to the pancreatic alpha-cells.  
Amer. J. clin. Path. 23, 1002 (1953)

- 21 FRANK, E., NOTHMANN, M. und WAGNER, A.:  
Über synthetisch hergestellte Körper mit insulinartiger Wirkung auf den normalen und den diabetischen Organismus.  
Klin.Wschr. 2, 2100 (1926)
- 22 GAEDE, K., FERNER, H. und KASTRUP, H.:  
Über das zweite Kohlenhydratstoffwechselhormon der Bauchspeicheldrüse (Glucagon) und seine Herkunft aus dem A-Zellsystem.  
Klin.Wschr. 23, 388 (1950)
- 23 GEORGII, A.:  
Tierexperimentelle Befunde zur Organtoxizität der Biguanide.  
Internat. Biguanid Symp. 1960 Aachen Thieme Stuttgart
- 24 GEORGII, A. und MEHNERT, H.:  
Über Leberveränderungen durch Thioazetamid bei gleichzeitiger Belastung mit blutzuckersenkenden Substanzen der Biguanidreihe.
- 25 GEORGII, A., MEHNERT, H., PROSIEGEL, R., KASTEIN, H., STOCK, G.:  
Tierexperimentelle Leberbefunde nach langfristigen Sulfonylharnstoffgaben (D 860) und gleichzeitiger Leberschädigung mit Thioazetamid.  
Zeitschr.exp.Med. 131, 181-190 (1959)
- 26 GEPTS, W.:  
Etude histologique de l'effect de sulfamides hypoglycémisants sur le îlots de Langerhans du rat.  
Ann.Endocr. (Paris) 18, 204 (1957)
- 27 GEPTS, W., CHRISTOPHE, J. et BELLENS, R.:  
Etude expérimentale du BZ 55 sur le rat normal ou alloxanisé. Modifications morphologiques et en particulier pancréatiques.  
Ann.Endocr. (Paris) 17, 278 (1956)
- 28 GOETZ, F.C. and EGDHAL, R.G.:  
Direct demonstration of insulin release from the pancreas by tolbutamide.  
Fed.Proc. 17, 55 (1958)
- 29 GOMORI, G.:  
A new stain for elastic tissue.  
Am.J.clin.Path. 20, 665 (1950)
- 30 GOMORI, G.:  
Chromhämatoxylin-Phloxinfärbung nach -  
Am.J.Path. 15, 497 (1939)
- 31 GOMORI, G.:  
Observations with differential stain on human islets of Langerhans.  
Am.J.Path. 17, 395 (1949)

- 32 HAIST, R.E.:  
Factors affecting the insulin content of the pancreas.  
Physiol.Rev. 24, 409 (1944)
- 33 HANSEN, L.:  
Eisentrioxyhämatein nach -  
Romeis, B. Mikroskop. Technik (1948)
- 34 HARMS, H.:  
Ein haltbares Aldehydfuchsin nach Gomori.  
Laboratoriumsblätter Bayer 1, 7 (1954)
- 35 HESSE, E. und TAUBMANN, G.:  
Die Wirkung des Biguanids und seiner Derivate auf den Zuckerstoffwechsel.  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak. 142, 290 (1929)
- 36 HESS, W.:  
Zur histologischen Diabetesdiagnose an den Langerhans'schen Inseln. Untersuchungen mit Versilberung nach Gros-Schultze.  
Schweiz.Z.Path.u.Bakt. 9, 46 (1946)
- 37 v.HOLT, C. und FERNER, H.:  
Morphologie der A-Zellbildung und Entinselung des Pankreas.  
Z.Zellforsch. 42, 305 (1955)
- 38 v.HOLT, C., v.HOLT, L., KRÖNER, B. und KÜHNNAU, J.:  
Chemische Ausschaltung der A-Zellen der Langerhans'schen Inseln.  
Naturwiss. 41, 166 (1954)
- 39 v.HOLT, C., v.HOLT, L., KRÖNER, B. und KÜHNNAU, J.:  
Über die Wirkung der chemischen Ausschaltung der A-Zellen der Langerhans'schen Inseln auf den Alloxandiabetes.  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak. 224, 78 (1955)
- 40 KRACHT, J.:  
Morphologisches Kriterien zur Beurteilung der Inselaktivität.  
Endokr. 36, 147 (1958)
- 41 KRACHT, J., KRÖNER, B., v.HOLT, L. und v.HOLT, C.:  
Zunahme von Plasmainsulinaktivität und B-Zellmitosen nach D 860.  
Naturwiss. 44, 16 (1957)
- 42 KRACHT, J., v.HOLT, C. und v.HOLT, L.:  
Morphologische Befunde zur Wirkungsweise oraler Antidiabetika.  
Endokr. 34, 129 (1957)
- 43 KRACHT, J. und RAUSCH-STROOMANN, J.G.:  
Das Inselzellsystem unter N1- sulfanilyl-N2-n-butylcarbamid.  
Naturwiss. 43, 180 (1956)

- 44 MASKE, H. :  
Darstellung der A- und B-Zellen in den Langerhans'schen Inseln.  
Klin. Wschr. 43, 1058 (1955)
- 45 MEHNERT, H. :  
Die kombinierte orale Diabetes-Therapie mit Sulfonylharnstoffen und Biguaniden.  
Internat. Biguanidsymp. (1960) Aachen, Thieme Stuttgart
- 46 MEHNERT, H. und KRALL, L. :  
Möglichkeiten und Grenzen der Diabetestherapie mit Biguaniden-  
Dtsch. med. Wschr. 15, 577 (1960)
- 47 MEHNERT, H. und GEORGII, A. :  
Untersuchungen zur Frage einer kombinierten oralen Diabetestherapie.  
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 65, 723 (1959)
- 48 MEHNERT, H. und SEITZ, W. :  
Weitere Ergebnisse der Diabetesbehandlung mit blutzuckersenkenden Biguaniden.  
Mü. med. Wschr. 100, 1849 (1958)
- 49 MOHNIKE, G. und KNITSCH, W. :  
Über die Wirkung von D 860 auf Glucose-6-Phosphatase der Leber.  
Naturwiss. 43, 449 (1956)
- 50 PFEIFFER, E. F., PFEIFFER, M., DITSCHUNEIT, H. und CHANG-SU AHN :  
Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose II, Experimentelle und klinische Erfahrungen.  
Klin. Wschr. 1239 (1959) 23
- 51 PFEIFFER, E. F., PFEIFFER, M., DITSCHUNEIT, H. und CHANG-SU AHN :  
Clinical and experimental studies of insulin secretion following tolbutamide and methexamide administration.  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 479-495 (1959)
- 52 PFEIFFER, E. F., STEIGERWALD, H., SANDRITTER, W., BÄNDER, A.,  
MAGER, A., BECKER, U. und RETIENE, K. :  
Vergleichende Untersuchungen von Morphologie und Hormongehalt der Kälberpankreas nach Sulfonylharnstoffen.  
Dtsch. med. Wschr. 1568 (1957) 36
- 53 POKRAJAC, N., RABADIJA, K., VRANIC, M. und ALLEGRETTI, N. :  
Das Inselsystem der Ratte in verschiedenen Lebensaltern.  
Naturwiss. 9, 338 (1959)

- 54 RENOLD, A.E., ZAHND, G.R., JEANRENAUD, B. and BOSHELL, B.R.:  
Some effects of toblutamide and chlorpropamide in viitro.  
Am. Acad. Sci. 74, 490 (1959)
- 55 ROOT, M.A.:  
Effekt of carbutamide on the insulin content of the dog pancreas.  
Diabetes 6, 12 (1957)
- 56 RUNGE, W.:  
Die Wirkung des Synthalin A auf das Inselorgan des Meerschweinchens.  
Klin. Wschr. 748 (1954) 31
- 57 RÜTTNER, J.R., RONDEZ, R.:  
Zur formalen Genese der TAA-Cirrhose der Ratte.  
Pathol. et Microbiol. 23, 113 (1960)
- 58 RÜTTNER, J.R., RONDEZ, R. und GRASSMANN, R.:  
Histochemische Untersuchungen an der toxisch geschädigten Rattenleber.  
Schweiz. Zeitschr. Path. 22, 294 (1959)
- 59 SNAGHA, K.:  
Zur Frage der Lebertoxizität von Butylbiguanid (W 37) und N- (4- Methyl-  
benzolsulfonyl) -N'-Butyl-Harnstoff (D 860) auf die Rattenleber.  
Inaug. Diss. München 1961
- 60 SHAPIRO, L.S.:  
Chemical properties of DBI and other hypoglycemic biguanides.  
Symposion on "A New Hypoglycemic Agent Phenformin(DBI)" Housten (Texas)  
1959
- 61 SÖLING, H.D., ANDREU, F.H., WERCHAU, W. und CREUTZFELDT, W.:  
Die Wirkung einer Kombination von N1-β-Phenyläthylbiguanid (DBI, W 32)  
mit Insulin und Tolbutamid (D 860) auf den Stoffwechsel des Meerschwein-  
chens.  
Klin. Wschr. 20, 1080 (1961)
- 62 SÖLING, H.D. und CREUTZFELDT, W.:  
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pharmakologie und zum Wirkungs-  
mechanismus von N1-n-β-Phenyläthylbiguanid und N1-n-Butylbiguanid.  
Intern. Biguanid Symp. (1960) Thieme Stuttgart
- 63 STEINER, D.F. and WILLIAMS, R.E.:  
Actions of phenethylbiguanide and related compounds  
Diabetes 8, 154 (1959)
- 64 SUTHERLAND, E.W. and DE DUVE, Ch.:  
Origin and distribution of the hyperglycemic-glycogenolytic factor of the  
pancreas.  
J. Biol. Chem. 175, 663 (1948)

65 TERBRÜGGEN, A.:

Untersuchungen über Inselapparat und Inseladenome, insbesondere über die Zelltypen bei Diabetes mellitus und Spontanhypoglycämie.  
Virchow's Arch. 315, 407 (1948)

66 TYBERGHEIN, J. M., WILLIAMS, R. H.:

Metabolic effects of phenethylbiguanidine: A new hypoglycemic compound.  
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 96, 29 (1957)

67 UNGAR, G., FREEDMAN, L. and SHAPIRO, S. L.:

Pharmacological studies of a new hypoglycemic drug.  
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 95, 190 (1957)

68 VOGT, B.:

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der chronischen Toxizität von Butylbiguanid (W 37) auf die gesunde und geschädigte Rattenleber.  
Inaug. Diss. München 1960

69 WALLENFELS, K. W. und SUMM, H. D.:

Hemmung und Aktivierung von DPN-abhängigen Zinkenzymen durch blutzuckersenkende Sulfonylharnstoffverbindungen.  
Klin. Wschr. 17, 849 (1957)

70 WALLENFELS, K. W., SUMM, H. D. und CREUTZFELDT, W.:

Enzymatische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der blutzuckersenkenden Medikamente.  
Dtsch. med. Wschr. (1957) 1581-1585, 36

71 WRENSHALL, G., ANDRUS, B. and MAYER, I.:

High levels of pancreatic insulin coexistent with hyperplasia and degranulation of beta-cells in mice with the hereditary obese-hyperglycemic syndrome.  
Endocrinology. 56, 335 (1955)

## LEBENS LAUF

Ich, Dieter Brdiczka, wurde am 8.3.1935 in Berlin geboren als Sohn des Arztes Dr. Georg Brdiczka und dessen Ehefrau Hedwig Brdiczka.

Die Grundschule besuchte ich in Berlin. Als nach Kriegsende mein Vater die Leitung des Krankenhauses in Buchen/Odenwald übernahm, kam ich in die Odenwaldschule in Oberhambach. In diesem Landerziehungsheim blieb ich während der gesamten Oberschulzeit und legte im März 1955 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1955 immatrikulierte ich mich an der Universität Würzburg für Naturwissenschaften und studierte zuerst 2 Semester Chemie. Im Sommersemester 1956 begann ich das Medizinstudium und bestand 1958 in Würzburg das Physikum.

Danach studierte ich je ein Semester in Freiburg und Hamburg und kam im Wintersemester 1959/60 nach München. Hier legte ich im Anschluss an das Sommersemester 1961 das medizinische Staatsexamen ab.

Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent am Pathologischen Institut der Universität München tätig.





